

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені В.Н. КАРАЗІНА

**ЛОМІКОВСЬКА МАРТА ПАВЛІВНА**

УДК 616.72-002-021.5 : 616.98 : (579.882+ 578.825.13)-036.11]-092.19-08

**ІМУНОПАТОГЕНЕЗ ІНФЕКЦІЙНОГО РЕАКТИВНОГО АРТРИТУ НА  
ТЛІ АКТИВОВАНИХ ОБЛІГАТНИХ ІНФЕКЦІЙ (CHLAMYDIA  
TRACHOMATIS ТА ЕПШТЕЙНА-БАРР ВІРУС), ТАКТИКА ВЕДЕННЯ  
ХВОРИХ**

14.03.08 – імунологія та алергологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор  
**Чопяк Валентина Володимирівна,**  
Львівський національний медичний  
університет імені Данила Галицького,  
Міністерства охорони здоров'я України,  
завідувачка кафедри клінічної імунології та  
алергології.

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор  
**Кайдашев Ігор Петрович,**  
Українська медична стоматологічна академія,  
Міністерства охорони здоров'я України,  
м. Полтава,  
проректор з наукової роботи;

доктор медичних наук, професор  
**Попов Микола Миколайович**  
Харківський національний університет  
імені В. Н. Каразіна  
Міністерства освіти і науки України,  
професор кафедри загальної та клінічної  
імунології та алергології.

Захист відбудеться \_\_\_\_\_ 2021 р. о \_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 6, ауд. 580.

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий «\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради Д 64.051.33  
доктор медичних наук, доцент



Тетяна ЛЯДОВА

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Реактивний артрит (ReA) – важлива медико-соціальна проблема сучасності у зв'язку з високою розповсюдженістю серед людей різних вікових груп, особливо серед осіб працездатного віку (Schmitt S.K., 2017). Думки дослідників сходяться у тому, що ця хвороба є найбільш частим видом гострого артриту в осіб молодого віку. У середньому, розповсюдженість ReA становить 30-200 випадків на 100 тисяч населення за даними різних авторів (Okamoto H., 2017; Misra R., 2017; В Lucchino, 2019). У даний час ReA розглядається як мультифакторне захворювання, пов'язане з хронічною інфекцією, у розвитку якого значну роль відіграють не тільки мікроорганізми, але й стан імунної системи. При цьому інфекційний агент у порожнині суглоба може не виявлятися, виконуючи роль пускового механізму хвороби (Alonso IQ, 2019)

Роль *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) у розвитку ReA не викликає сумнівів. Це пов'язано з широкою розповсюдженістю хламідійної інфекції, особливостями шляхів її передачі, циклом розвитку хламідій та реакцією організму пацієнта на лікування. У розвитку ReA відіграють важливу роль безпосереднє ураження органа-мішені *C. trachomatis* і неадекватна імунна відповідь (M Sharma, 2020). В останні роки особлива увага науковців приділялася ролі вірусної інфекції в розвитку та перебігу ReA. (Marks M., 2016). Сьогодні недооцінені наслідки дії реактивації вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) у хворих на ReA, який відноситься до групи  $\gamma$ -герпесвірусів і асоціюється з лімфопроліферативними, аутоімунними хворобами, синдромом хронічної втоми тощо. Імунопатогенетичні аспекти ReA активно вивчаються і становлять значний науково-практичний інтерес, проте вплив ВЕБ на функцію імунної системи при розвитку ReA залишається відкритим (Kimura H., 2016; Попов М.М., 2018).

Актуальність проблеми ReA також пов'язана зі складністю діагностики, а саме з тим, що по-перше, не досягнуто консенсусу щодо діагностичних критеріїв; по-друге, ReA може розвиватися після уrogenітальних, кишкових чи респіраторних інфекцій, які часто мають субклінічний перебіг і тому не діагностуються; по-третє, нез'ясованими залишаються критерії оцінки ступеню імунорегуляторних порушень у пацієнтів з ReA. Існують суперечливі дані щодо механізмів регуляції імунної відповіді у пацієнтів з імунозалежними інфекціями, зокрема у комбінації хламідійної та ВЕБ-інфекцій (*C. trachomatis*+ВЕБ) та не вивчено ризику трансформації в більш тяжкі системні аутоімунні хвороби, такі як ревматоїдний артрит (РА). (Fujiwara Sh., 2015; Mamontova T.V., 2018; Федорова А.В., 2019). Актуальними є питання доцільності та особливостей застосування імуномодуючої терапії на тлі доказової етіотропної та протизапальної терапії у хворих на ReA комбінованого генезу.

Отже, проблеми пов'язані з високою частотою ReA, складністю діагностики, залученням багатьох органів і систем та недостатньо ефективним

лікуванням вимагають свого вирішення. Відсутній структурований комплексно-диференційний підхід до діагностичної та терапевтичної тактики хворих на РеА, що підтверджує доцільність подальшого вивчення молекулярно-генетичних, імунологічних механізмів хвороби з метою прогнозування перебігу, тактики ведення таких хворих та попередження розвитку важких системних ускладнень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом планової комплексної науково-дослідної роботи кафедри клінічної імунології та алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (ЛНМУ) на тему «Прогнозування розвитку вірус-індукованих фенотипів імунозалежних хвороб з персоніфікацією їх діагностики та лікування» (Державний реєстраційний № 0118U000110).

**Мета дослідження.** Підвищення ефективності лікування та раннього прогнозування ризиків трансформації реактивного артрит у ревматоїдний артрит шляхом вивчення особливостей імунопатогенезу інфекційного реактивного артрит на тлі колонізації хламідійної і реактивації ВЕБ-інфекції.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити клінічні та скринінгові лабораторно-імунологічні критерії ранньої діагностики інфекційного реактивного артрит на тлі *C. trachomatis* і ВЕБ-інфекції.
2. Вивчити особливості рівня BART-13 та BART-15 ВЕБ; miR155 та miR146a, оцінити їх вплив на імуnoreгуляторні процеси у хворих на реактивний артрит.
3. Порівняти рівень експресії TLR9 на клітинах крові та провести аналіз особливостей фагоцитарної активності імунокомпетентних клітин у досліджуваних групах хворих.
4. Проаналізувати фенотипування лімфоцитів, їх активізаційних маркерів і визначити наявність взаємозв'язків між імунологічними показниками у хворих на реактивний артрит залежно від етіологічного чинника.
5. Визначити рівні синтезу цитокінів: TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-22, IL-23, IFN- $\gamma$  та IL-10 в сироватці крові та вивчити їх патогенетичне значення в розвитку реактивного артрит.
6. Вивчити рівень кінцевих продуктів глікації в сироватці крові (AGE) у досліджуваних групах хворих.
7. Запропонувати математичну модель ризиків розвитку трансформації інфекційного реактивного артрит у ревматоїдний артрит.
8. Оцінити клінічну та імунологічну ефективність, безпеку та перенесення імуномодуючої терапії ліофілізованого діалізату лейкоцитів «Імодин» на тлі етіотропної та протизапальної терапії хворими на реактивний артрит з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ).

**Об'єкт дослідження:** реактивний артрит спричинений *C. trachomatis* та комбінацією *C. trachomatis* з вірусом Епштейна-Барр.

**Предмет дослідження:** комплекс імунологічних, молекулярно-генетичних, серологічних, біохімічних та клінічних параметрів у хворих на реактивний артрит спричинений *S. trachomatis* та в комбінації з вірусом Епштейна-Барр, ефективність та безпечність імуномодуючої терапії.

**Методи дослідження:** клінічні, загально-лабораторні (цитологічні, біохімічні), молекулярно-генетичні, імунологічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** На підставі комплексного дослідження імунологічних, серологічних, молекулярно-генетичних досліджень розширено знання щодо участі фагоцитарних, лімфоцитарних, цитокінових та метаболічних механізмів в розвитку реактивного артриту на тлі *S. trachomatis* і вірусу Епштейна-Барр.

Вперше досліджено рівень молекул BART-13, BART-15 вірусу Епштейна-Барр та регуляторних молекул miR155 та miR146a у хворих на реактивний артрит на тлі *S. trachomatis* і Епштейна-Барр вірусної інфекції. Доведено наявність кореляційної залежності між рівнем молекул BART-13, BART-15 ВЕБ та регуляторних молекул miR155 та miR146a у хворих на реактивний артрит на тлі комбінованої інфекції (*S. trachomatis*+ВЕБ).

Вперше у хворих на РеА на тлі *S. trachomatis* і Епштейна-Барр вірусної інфекції досліджено рівень продуктів глікації AGE в сироватці крові.

На підставі комплексного вивчення імунологічних та молекулярно-генетичних параметрів запропоновано математичну модель прогнозування ризиків трансформації реактивного артриту тлі комбінованої інфекції (*S. trachomatis*+ВЕБ) в ревматоїдний артрит.

Доведена клінічна ефективність та безпечність у якості терапії супроводу застосування ліофілізованого діалізату лейкоцитів "Імодин" у хворих на реактивний артрит на тлі комбінованої інфекції (*S. trachomatis*+ВЕБ).

**Практичне значення отриманих результатів.** Визначено особливості клінічних проявів і перебігу реактивного артриту залежно від причинного збудника з використанням індексу активності DAREA.

Запроваджено ранню діагностику реактивного артриту за допомогою молекулярно-генетичного дослідження ДНК причинного збудника у різних біологічних середовищах та специфічного антитілоутворення.

На підставі отриманих даних рекомендовано математичну модель прогнозування трансформації РеА на тлі комбінованої інфекції (*S. trachomatis*+ВЕБ) в РА на підставі виявлення факторів ризику: рівня молекул BART-13, BART-15 та miR146a, в сироватці крові, відносної кількості CD19<sup>+</sup>, виявлення ДНК ВЕБ у крові, сліні та слизових одночасно.

Для зменшення ризиків трансформації реактивного артриту у ревматоїдний артрит розроблено схему лікування та доведено її ефективність із застосування ліофілізованого діалізату лейкоцитів "Імодин" у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*S. trachomatis*+ВЕБ) як терапії супроводу на тлі етіотропного та протизапального лікування, яка призначалася курсом з 5-ти

доз: чотири основні дози (одна доза один раз на тиждень), п'ята доза вводилася через один місяць.

Результати дисертаційного дослідження запроваджені в практику клінічних баз кафедри клінічної імунології та алергології (акти впровадження від 03.06.2020, 05.06.2020, 09.06.20), а також у практику ревматологічного відділення «Львівської обласної клінічної лікарні» (акти впровадження від 05.06.2020), консультативного відділення ЛОДЦ (акти впровадження від 3.06.2020), клініки дитячої імунології та ревматології "Західноукраїнського спеціалізованого дитячого медичного центру" (акти впровадження від 09.06.2020).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є самостійною науковою працею здобувача. Разом із науковим керівником визначено тему та завдання наукових досліджень. Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз джерел літератури за темою дисертації, обстежено 88 хворих на реактивний артрит, 31 хворий на ревматоїдний артрит та 25 осіб контрольної групи; визначено й здійснено комплексну діагностично-лікувальну програму, виконано статистичну обробку отриманих результатів, написано усі розділи дисертації, підготовлено до друку наукові публікації, забезпечено впровадження результатів дисертаційної роботи в клінічну практику. Проведено низку імунологічних досліджень хворих у співпраці з відділом інфекційної імунології Інституту імунології та експериментальної терапії Польської академії наук (Вроцлав, Польща), молекулярно-генетичних досліджень – з відділом загальної та молекулярної патофізіології інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Спільно з науковим керівником систематизовано та проаналізовано отримані результати, сформульовано основні положення, висновки та розроблено практичні рекомендації.

**Апробація результатів дисертації.** Результати та головні положення дисертаційного дослідження представлені на засіданнях кафедри клінічної імунології та алергології ЛНМУ ім. Д. Галицького (2016-2020 рр.); планових науково-практичних семінарах клінічних імунологів Львівської області (2016-2019 рр.); II Міжнародному симпозіумі «Захворювання кістково-м'язової системи та вік» (Львів, 2016 р.); міжнародних читаннях з імунології та алергології «Від науки до практики» (Львів, 2017 р.); всеукраїнській науково-практичній конференції «Медикаментозна алергія: мультидисциплінарний підхід» (Львів, 2017 р.), 11th International Conference of Allergy, Asthma and Clinical Immunology (Едінбург, Великобританія, 2017 р.); науково - практичній конференції «Імунодіагностика та імуноterapia для практичної медицини» (Львів, 2018 р.); ЕААСІ конгрес (Мюнхен, Німеччина, 2018 р.); науково - практичній конференції «Ревматичні хвороби: модифікація імунного статусу та запального процесу» (Київ, 2019 р.); ЕААСІ конгрес (Лісабон, Португалія, 2019 р.); науково-практичній конференції «Сучасні питання алергології» (Дніпро, 2019 р.); науково-практичній конференції «Інновації в імунології та алергології» (Львів, 2019 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 20 наукових праць, у тому числі 9 статей: 6 – у наукових фахових виданнях, внесених до переліку МОН України, 1 – у журналах, зареєстрованих в наукометричній базі Scopus, 2 – у журналах, зареєстрованих у міжнародній наукометричній системі Web of Science та 11 тез доповідей на наукових конференціях, з них 4 – у матеріалах міжнародних конгресів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, додатків. Загальний обсяг роботи складає 180 сторінок, з них 115 сторінок основного тексту. Робота ілюстрована 19 таблицями, 23 рисунками. Список використаної літератури включає 173 джерел, з них – 35 кирилицею та 138 – латиною і займає 18 сторінок.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Об'єкт та методи дослідження.** З використанням клінічних, загальних лабораторних, біохімічних, молекулярно-генетичних, імунологічних, інструментальних методів протягом 2016-2019 року було обстежено 144 осіб: 119 пацієнтів, які знаходились на стаціонарному лікуванні в ревматологічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні або амбулаторному лікуванні в Львівському обласному клінічному діагностичному центрі та 25 практично здорових осіб. Були виділені наступні групи пацієнтів: 45 хворих на реактивний артрит спричинений *S. trachomatis* (1-а група), 43 хворих на реактивний артрит в комбінації *S. trachomatis* та Епштейна-Барр вірусної інфекції (*S. trachomatis*+ВЕБ) (2-а група) та 25 хворих на ревматоїдний артрит (3-група). Обстеження хворих на РА проводилось з метою побудови математичної моделі прогнозування ризику трансформації РеА в РА за допомогою методу логістичної регресії. З метою оцінки ефективності та безпеки препарату Імодин хворих 2-ї групи на РеА з комбінованим інфікуванням (*S. trachomatis*+ВЕБ) поділено випадковим способом на 2 підгрупи: 2А підгрупа (23 хворих), яким була призначена лише етіотропна та протизапальна терапія; 2В підгрупа (20 хворих), яким був призначений ліофілізований діалізат лейкоцитів «Імодин» як терапія супроводу на тлі етіотропного та протизапального лікування. Схема лікування Імодином передбачала застосування 5-ти доз: чотири основні дози (одна доза один раз на тиждень), п'ята доза вводилася через один місяць. Обстеження пацієнтів 2-ї групи проводились перед лікування та через 90 днів.

Протокол обстеження відповідав етичним стандартам і дозволений комісією з етики ЛНМУ ім. Д. Галицького (протокол № 5 від 16 травня 2016 року).

Клінічну оцінку хворих проводили на основі скарг, загального огляду, індексу активності DAREА (кількість болючих та набряклих суглобів, оцінка

болю та загального стану пацієнта, рівень С-реактивного білка). Визначення ДНК ВЕБ та *C. trachomatis* проводили за допомогою молекулярно-генетичного методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з набором реагентів «АмпліСенс» (Росія). Визначення імуноглобулінів класу М, G, А до *C. trachomatis* та імуноглобулінів М, G до ВЕБ проводили за допомогою методу імуноферментного аналізу (ІФА) та тест систем «Вектор-Бест» (Росія). Для визначення рівня BART-13, BART-15, miR146a, miR155, використовували метод ПЛР за методикою Tagman з використанням «Rotor Gene 6000» (Corbett Research, Австралія). Оцінку експресії TLR9 на клітинах крові оцінювали за допомогою методу проточної цитометрії з використанням відповідних моноклональних антитіл. Оцінка фагоцитарної та оксидативної активності, фенотипування лімфоцитів та їх активізаційних маркерів, проводились методом проточної цитофлюориметрії на цитометрі FACS Calibur «Becton Dickinson» (США) з використанням відповідних тест систем «Becton Dickinson». Рівень цитокінів у крові визначали за допомогою платформи BioPlex 200 з HRF (Bio-Rad, США), використовуючи технологію Luminex xMAP. Визначення кінцевих продуктів глікації (AGE) проводили методом ІФА, використовуючи Stat Fax 4300 ChroMate (США).

Всі статистичні обрахунки проводилися із використанням програмного забезпечення RStudio v. 1.1.442 та R Commander v.2.4-4. Проводили визначення середніх значень та їх стандартних похибок, оцінку вірогідності різниці за допомогою методу Манна-Уїтні та критерію Стюдента, визначали коефіцієнти кореляції між показниками різних груп хворих.

**Результати дослідження та їх обговорення.** У хворих на РеА всіх груп переважав молодий вік ( $28,4 \pm 8,39$ ). Вікової достовірної різниці у досліджуваних групах не виявлено ( $p > 0,05$ ). Щодо гендерного розподілу в усіх групах хворих на РеА переважали чоловіки. Активність запального процесу за індексом DAREA була в 1,40 рази вищою у хворих на РеА з комбінованою інфекцією ( $13,6 \pm 1,45$ ,  $p < 0,05$ ) порівняно з групою хворих на РеА з *C. trachomatis* ( $9,71 \pm 1,23$ ).

Окрім суглобового синдрому в хворих на РеА з комбінованою інфекцією спостерігались субфебрилітет у 53,5% осіб, лімфаденопатія у 34,9% хворих, часто рецидивуючий тонзиліт у 32,6% осіб; у пацієнтів з РеА хламідійного та комбінованого генезу – увейти, ураження нижніх відділів сечостатевої системи спостерігались відповідно у 62,2% та 55,9% хворих. ШОЕ та СРП були підвищеними в усіх досліджуваних групах пацієнтів з РеА порівняно зі здоровими ( $p < 0,05$ ). Виявлено відносний лімфоцитоз та моноцитоз у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ).

Частота виявлення ДНК в урогенітальному зішкрябі була більшою ніж у крові в 1,47 рази у хворих на РеА з ізольованою хламідійною інфекцією і в 1,67 рази – у хворих з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ). У групах хворих на РеА з хламідійною та комбінованою інфекціями підвищені рівні специфічних IgG до *C. trachomatis* були виявлені відповідно у 93,0% та 96,7% осіб, IgM – у 35,6% та 39,5% хворих, а IgA – у 84,5% та 79,0% пацієнтів.



У хворих з РеА та комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ) ДНК ВЕБ виявлялась у 32,6% хворих в зішкрябах слизової задньої стінки глотки, у 4,65% – у слині, і у 62,8% пацієнтів одночасно у кількох біологічних середовищах в різних комбінаціях: слина + зішкряб слизової – у 55,8% кров, слина і зішкряб – у 6,98% хворих. Щодо серологічних досліджень ВЕБ-інфекції у хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ), то у всіх пацієнтів виявлено підвищення в 6 разів титру антитіл класу IgG до ядерного антигену ВЕБ (IgG EBNA) та до капсидного антигену (IgG VCA).

У групі хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) виявлено зміну рівня міР ВЕБ BART-13 та BART-15. У хворих інших груп наявність молекул BART-13 та BART-15 була відсутньою. Так, у пацієнтів з РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) був виявлений збільшений рівень молекул BART-13 – Ме=7,01 у.о. (25%=0,05; 75%=53,5), ( $p<0,01$ ), а рівень BART-15 в цій же групі хворих становив – Ме=0,56 у.о. (25%=0,01; 75%=6,33), ( $p<0,01$ ).

Виявлено значні зміни рівня міР146а та міР155 у досліджуваних групах хворих (див. рис.1-2).

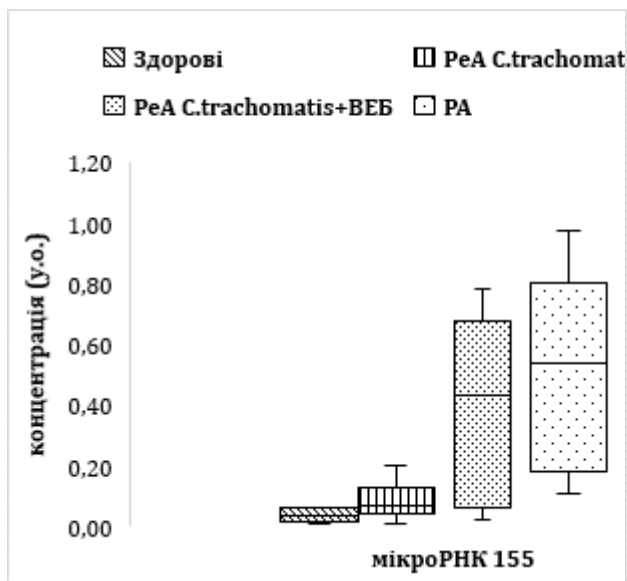


Рис. 1 Медіани розподілу рівнів молекул міР155 в сироватці крові пацієнтів з РеА, спричинених досліджуваними збудниками

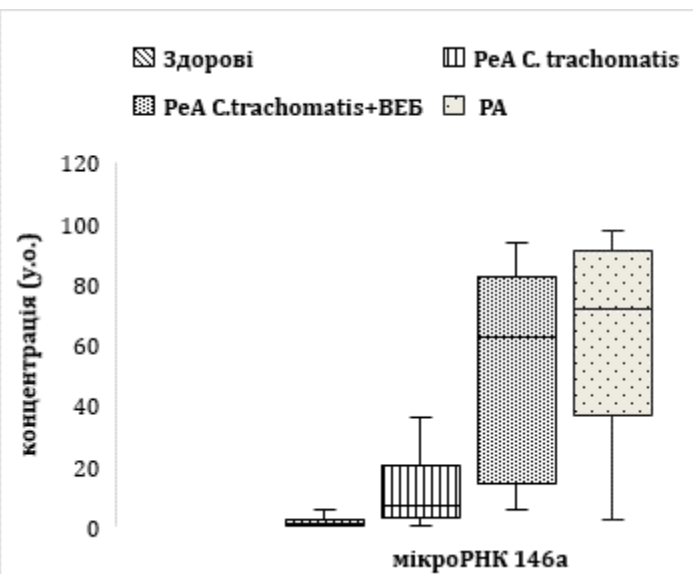


Рис. 2 Медіани розподілу рівнів молекул міР146а в сироватці крові пацієнтів з РеА, спричинених досліджуваними збудниками

Рівень міР146а був найбільшим та підвищеним у пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – Ме=66,8 у.о. (25%=12,0; 75%=82,0;  $p<0,01$ ) та збільшеним у групі пацієнтів з РеА з хламідійною інфекцією Ме=8,67 у.о. (25%=4,39; 75%=17,0;  $p<0,01$ ) порівняно зі здоровими Ме=0,18 у.о. (25%=0,04; 75%=0,48), при цьому рівень експресії міР146а був у 7,71 рази вищим у групі пацієнтів з РеА з комбінованою інфекцією порівняно з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*, ( $p<0,05$ ). Рівень міР155 був

найвищим та збільшеним у пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) –  $Me=0,44$  у.о. ( $25\%=0,04$ ,  $75\%=0,66$ ;  $p<0,01$ ) та збільшеним у групі пацієнтів з РеА з хламідійною інфекцією –  $Me=0,07$  у.о. ( $25\%=0,04$ ,  $75\%=0,13$ ;  $p<0,01$ ) порівняно зі здоровими особами –  $Me=0,04$  у.о. ( $25\%=0,01$ ,  $75\%=0,25$ ). При цьому рівень молекули *miR155* був у 6,29 рази вищим у групі пацієнтів з РеА з комбінованою інфекцією порівняно з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*, ( $p<0,05$ ).

На основі проведення дослідження взаємозв'язку рівнів молекул *miR146a*, *miR155* та BART-13 і BART-15 в групі пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis*+ВЕБ) була виявлена позитивна кореляція між рівнями BART-15 та *miR155* ( $r=0,79$ ;  $p<0,05$ ) та між BART-13 та *miR146* ( $r=0,62$ ,  $p<0,05$ ), що може вказувати на вплив BART на *miR146a* та *miR155*, в результаті якого можливе посилення дисрегуляторних процесів. (див. табл 1).

Таблиця 1

**Кореляційна матриця у групі пацієнтів РеА з комбінованим інфікуванням *C. trachomatis*+ВЕБ**

	BART-13	BART-15	<i>miR146</i>	<i>miR155</i>
BART-13	1,00	0,20	0,62*	-0,22
BART-15	0,20	1,00	-0,11	0,79*
<i>miR146</i>	0,62*	-0,11	1,00	-0,11
<i>miR155</i>	-0,22	0,79*	-0,11	1,00

Примітка: \* - коефіцієнт кореляції достовірний ( $p<0,05$ )

Проведено аналіз експресії TLR9 на клітинах крові у хворих на РеА та РА залежно від активності хронічної ВЕБ-інфекції. У пацієнтів з РеА лише з *C. trachomatis* експресія TLR9 на моноцитах ( $0,06\pm0,01\%$ ) виявилась в 1,50 рази меншою порівняно з хворими на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) ( $0,09\pm0,01\%$ ;  $p<0,05$ ). Експресія TLR9 на лімфоцитах була більшою в 1,33 рази у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) ( $1,62\pm0,15\%$ ) порівняно з аналогічними даними хворих на РеА лише *C. trachomatis* ( $1,22\pm0,34$ ;  $p>0,05$ ). У пацієнтів з РА, залежно від стадії активності хронічної ВЕБ-інфекції експресія TLR9 на моноцитах не відрізнялась порівняно з хворими як на РеА з комбінованою інфекцією *C. trachomatis* + ВЕБ (відповідно  $0,09\pm0,01\%$  і  $0,12\pm0,03\%$ ;  $p>0,05$ ), так і на РеА лише з *C. trachomatis* (відповідно  $0,06\pm0,01\%$  і  $0,09\pm0,02\%$ ;  $p>0,05$ ). Число TLR9+CD123+лімфоцитів виявилось більшим на 23,2% у хворих на РА ( $2,11\pm0,11\%$ ), порівняно з пацієнтами з РеА з комбінованою інфекцією *C. trachomatis* + ВЕБ ( $1,62\pm0,15$ ;  $p<0,05$ ). Таким чином, рівень експресії TLR9+CD123+ на моноцитах та лімфоцитах був більш виражений у групі

хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis*.

Фагоцитарний показник нейтрофілів виявився підвищеним у хворих на РеА з *C. trachomatis* ( $7,41 \pm 0,46\%$ ;  $p < 0,05$ ) та РеА з комбінованою інфекцією *C. trachomatis* + ВЕБ ( $8,28 \pm 1,18\%$ ;  $p < 0,05$ ) порівняно зі здоровими особами ( $5,19 \pm 0,84\%$ ). Поглинаюча здатність моноцитів також була підвищена у хворих на РеА з *C. trachomatis* –  $17,6 \pm 2,58\%$  та з РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ) –  $21,7 \pm 4,34\%$ , порівняно зі здоровими особами ( $10,2 \pm 1,23\%$ ;  $p < 0,05$ ). Після стимуляції *E.coli* спостерігалось зниження в 1,3 рази поглинальної здатності нейтрофілів лише у групі хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) –  $74,5 \pm 8,02\%$ , порівняно зі здоровими особами ( $96,5 \pm 6,14\%$ ;  $p < 0,05$ ), що свідчить про недостатній резервний запас поглинаючої здатності цих клітин. Резервна здатність поглинальної активності моноцитів у всіх групах хворих на РеА була достовірно зниженою порівняно зі здоровими особами ( $p < 0,05$ ).

Здатність нейтрофілів до перетравлення виявилась високою у всіх групах хворих на РеА порівняно зі здоровими особами ( $p < 0,05$ ). Природня стимуляція оксидативної активності нейтрофілів була знижена у пацієнтів з РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) –  $74,8 \pm 8,41\%$  порівняно з групою здорових осіб ( $97,4 \pm 5,83\%$ ;  $p < 0,05$ ). Оксидативна здатність моноцитів як в абсолютних, так і відносних показниках у всіх групах хворих на РеА виявилась вищою порівняно із здоровими особами ( $p < 0,05$ ). Природня стимуляція оксидативної здатності моноцитів була меншою у хворих на РеА з комбінованою інфекцією *C. trachomatis* + ВЕБ ( $64,1 \pm 4,47\%$ ;  $p < 0,01$ ) і на РеА хламідійного генезу ( $68,4 \pm 4,65\%$ ;  $p < 0,05$ ) порівняно зі здоровими особами ( $83,5 \pm 5,65\%$ ). У групі хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) спостерігалось зростання в 1,66 рази оксидативної здатності моноцитів при використанні слабого фізіологічного стимулятора – N-формілметіоніл-лейцил-фенілаланіну (fMLP) ( $7,38 \pm 1,29\%$ ) порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis* ( $4,45 \pm 0,60\%$ ;  $p < 0,05$ ).

На основі аналізу фенотипічних особливостей лімфоцитів та їх активізаційних маркерів виявлено зниження відносної кількості  $CD3^+CD16^{+}/56^{+}$  у групі пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis*+ВЕБ) –  $9,62 \pm 0,43\%$ , порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis* ( $14,5 \pm 1,12\%$ ;  $p < 0,001$ ) та з контрольною групою осіб ( $12,0 \pm 0,50\%$ ;  $p < 0,05$ ). Встановлено зниження відносної кількості  $CD3^+CD8^+$  у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ) –  $20,1 \pm 1,73\%$  порівняно зі здоровими ( $27,0 \pm 1,36\%$ ;  $p < 0,01$ ). Зниження кількості відповідних лімфоцитів у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis*+ВЕБ) може свідчити про послаблення протівірусного захисту (Kimura H., 2017). Підвищення абсолютної та відносної кількості В-клітин  $CD3^+CD19^+$  в групі хворих на РеА з комбінованою інфекцією *C. trachomatis*+ВЕБ ( $20,2 \pm 1,91\%$ ;  $0,55 \pm 0,07$  Г/л) порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis* ( $14,4 \pm 1,64\%$ ;  $0,31 \pm 0,02$  Г/л;  $p < 0,05$ ) та з контрольною групою здорових осіб ( $14,8 \pm 0,90\%$ ;

0,37±0,05 Г/л;  $p<0,05$ ) можна пояснити персистенцією ВЕБ в цих клітинах з активацією гуморальної ланки імунної системи з ймовірністю формування аутоімунних реакцій за вказаним типом (Lopes JR, 2016, Balandraud N., 2018). Збільшення маркера пізньої активації на лімфоцитах CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> у групах хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 16,2±2,70%; 0,40±0,09 Г/л порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis* (12,7±1,82%; 0,31±0,07 Г/л;  $p>0,05$ ) та з групою здорових осіб (12,3±1,84%; 0,31±0,03 Г/л; ( $p>0,05$ )) може вказувати на значну і довготривалу активацію імунокомпетентних клітин, що може сприяти аутоагресії. Окрім цього у хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) виявлено збільшення експресії на лімфоцитах антигенів CD3<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> – 24,3±2,05%; 0,11±0,02 Г/л порівняно з хворими на РеА з *C. trachomatis* (21,2±3,92%; 0,09±0,01 Г/л;  $p>0,05$ ) та зі здоровими особами (20,4±3,51%; 0,08±0,02 Г/л;  $p>0,05$ ). Маркер активації, пов'язаний з експресією рецептору до інтерлейкіну-2 на CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> був знижений у відносних та абсолютних значеннях у групах хворих на РеА з комбінованим інфікуванням *C. trachomatis* + ВЕБ ( $p>0,05$ ), що може вказувати на зниження кількості регуляторних Т-клітин, а відповідно і можливий ризик зриву імунної толерантності (Moradi B, 2014).

Проведене порівняння синтезу цитокінів у сироватці крові досліджуваних груп хворих. Рівень TNF- $\alpha$  був підвищений у всіх досліджуваних групах хворих на РеА: у 1,82 рази при хламідійній інфекції – 18,4±3,56 пг/мл, у 1,76 рази у пацієнтів з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 17,5±3,03 пг/мл порівняно із здоровими особами – 9,96±2,03 пг/мл ( $p<0,05$ ). Концентрація IL-17 була підвищеною у всіх досліджуваних групах пацієнтів з РеА: у 2,08 рази при *C. trachomatis* – 3,45±0,78 пг/мл та у 1,98 рази у пацієнтів з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 3,29±0,73 пг/мл порівняно із здоровими – 1,66±0,15 пг/мл ( $p<0,05$ ), що може вказувати на провідну роль IL-17 у формуванні запальних реакцій (Salloum N., 2018; Костарева О.С., 2019). Підвищений рівень IL-22 визначався у всіх досліджуваних групах пацієнтів з РеА: у 1,97 рази у хворих на РеА з *C. trachomatis* (4,45±0,68 пг/мл;  $p<0,05$ ), у 2,19 рази в пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 4,92±0,84 пг/мл ( $p<0,01$ ) порівняно із здоровими – 2,25±0,53 пг/мл. Рівень IL-23 був підвищений у 1,58 рази лише у групі пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 2,69±0,24 пг/мл порівняно із здоровими особами (1,70±0,13 пг/мл,  $p<0,001$ ). Виявлено підвищений рівень у 3,05 рази IFN- $\gamma$  у пацієнтів з РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) – 1,13±0,14 пг/мл порівняно зі здоровими (0,37±0,09 пг/мл;  $p<0,0001$ ) та в 1,71 рази в порівнянні з хворими на РеА з *C. trachomatis* – 0,66±0,11 пг/мл ( $p<0,05$ ). Як відомо, порушення функціонування системи IFN- $\gamma$  може призвести до розвитку не лише інфекційних (вірусних чи бактерійних) захворювань, але й аутоімунної патології (Lee SH, 2017; Zeng H, 2020). Рівень IL-10 був зниженим у 3,54 рази в групі хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis*+ВЕБ) –

0,44±0,04 пг/мл порівняно зі здоровими (1,56±0,29 пг/мл,  $p<0,001$ ) та в 1,64 рази порівняно з пацієнтами з РеА з *C. trachomatis* – 0,72±0,09 пг/мл ( $p<0,01$ ). Отримані дані можуть вказувати на більш агресивний перебіг та тривалий запальний процес на тлі зниження клітинного імунітету та порушення імунної регуляції у хворих на реактивний артрит з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ). Очевидно в цих хворих існує висока ймовірність трансформації захворювання в ревматоїдний артрит або іншу аутоімунну патологію.

При оцінці рівня кінцевих продуктів глікації в сироватці крові (див. рис.3) спостерігалось достовірне зростання концентрації AGEs у 4,07 рази (216,6±15,4 мкг/мл;  $p<0,0001$ ) у пацієнтів з РеА хламідійного генезу та у 6,60 рази (351,1±42,4 мкг/мл;  $p<0,0001$ ) у хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis* + ВЕБ) порівняно з контрольною групою осіб (53,2±10,3 мкг/мл), що відображено на рисунку 5. У хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) концентрація кінцевих продуктів глікації в крові була вищою в 1,62 рази порівняно з хворими на РеА лише з *C. trachomatis* ( $p<0,01$ ). Також виявлена значна експресія AGEs у хворих на РА, що у 10,8 рази перевищувала показники контрольної групи і складала 576,1±94,1 мкг/мл проти 53,2±10,3 мкг/мл ( $p<0,0001$ ). Найбільш висока концентрація AGE у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) може вказувати на інтенсивність запального процесу з ймовірністю його хронізації та формуванням аутоімунних ускладнень (Kellow NJ, 2015).

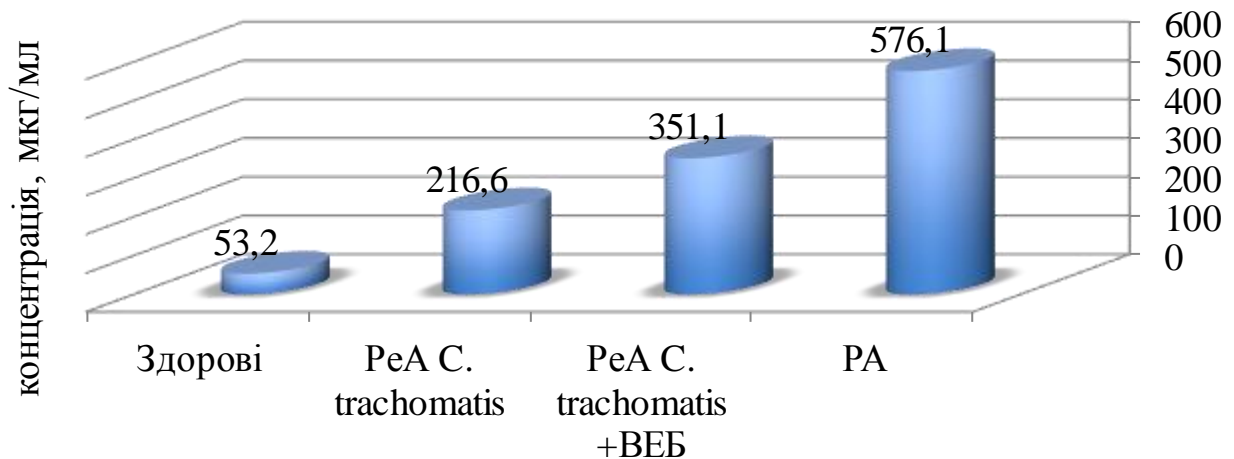


Рис. 3 Рівень AGEs у сироватці крові досліджуваних груп хворих та здорових осіб.

Шляхом проведення математичного моделювання методом логістичної регресії, ми виокремили сім молекулярно-генетичних та імунологічних показників, які при поєднаній дії мають вплив на ймовірність трансформації РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) в РА (див. табл.2). Ймовірність трансформації реактивного артриту в ревматоїдний артрит (Т) залежно від вибраних нами факторів обчислювалась за формулою:

$$T = \frac{1}{1 + e^{-R}} * 100\%$$

де  $e = 2,718...$  – основа натуральних логарифмів,  $R$  – величина, обчислена за формулою:  $R = 0,0000004 * V1 + 0,0000047 * V2 + 0,0006563 * V3 + 1,3351909 * V4 + 2,6359443 * V5 + 0,6934980 * V6 + 0,0090555 * V7 - 68,6610581$ .

Таблиця 2

**Коефіцієнти регресії щодо ймовірності трансформації реактивного артриту в ревматоїдний артрит за методом логістичної регресії**

№ з/п	Фактори	Умовні позначення	Коефіцієнти регресії ( $\beta_i$ )
1	ПЛР ВЕБ слина (копій ДНК/мл)	V1	0,0000004
2	ПЛР ВЕБ слизова (копій ДНК/мл)	V2	0,0000047
3	ПЛР ВЕБ кров (копій ДНК/мл)	V3	0,0006563
4	CD19%	V4	1,3351909
5	miR146 у.о.	V5	2,6359443
6	BART-13 у.о.	V6	0,6934980
7	BART-15 у.о.	V7	0,0090555
8	Константа		-68,6610581

Отримані дані дозволяють впливати на визначення тактики лікування та профілактики для попередження розвитку трансформації у важку аутоімунну патологію.

На основі отриманих нами результатів можна зробити висновки, що у хворих на РеА з комбінацією *S. trachomatis* та ВЕБ призводить до значних змін вродженого та адаптивного імунітету, що потребує застосування імуномодуючої терапії. У зв'язку з цим, ми пропонуємо до застосування лейкоцитарний імуномодулятор Імодин. Схема лікування Імодином передбачала застосування 5-ти доз: чотири основні дози (одна доза один раз на тиждень), п'ята доза вводилася через один місяць. На основі клінічних (індекс DAREА) та імунологічних (фенотипічні властивості лімфоцитів та активність фагоцитарної системи) показників досліджено ефективність та безпеку терапії супроводу Імодином у хворих на реактивний артрит з комбінованою інфекцією (*S. trachomatis* + ВЕБ). Індекс DAREА у хворих до лікування становив  $13,6 \pm 1,45$ , а застосування Імодину сприяло покращенню клінічної ефективності в 8 разів (індекс DAREА  $1,72 \pm 0,62$ ), що був в 2,51 рази менший порівняно з хворими на РеА, які отримували лише етіотропну та протизапальну терапії (індекс DAREА  $4,31 \pm 0,91$ ;  $p < 0,05$ ). Після застосування препарату Імодин оцінка субпопуляційного складу лімфоцитів дозволила встановити збільшення Т-цитотоксичних лімфоцитів ( $p < 0,01$ ), зменшення кількості В-лімфоцитів ( $p < 0,05$ ) та збільшення НК-клітин на тлі зниження Т-хелперів та підвищення Т-регуляторних лімфоцитів ( $p > 0,05$ ), що можна

розцінити як зменшення аутоагресії на тлі підвищення протівірусного захисту. Після призначення препарату Імодин посилилась поглинальна здатність та окисно-залежний процесінг нейтрофілів та моноцитів. На основі клінічних та загальних лабораторних параметрів була проведена оцінка безпеки застосування Імодину в комплексній терапії РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ).. Встановлено, що перенесення Імодину за оцінкою хворих та лікарів було однаковим і становило: «добре» – 90 % та «задовільно» – 10%.

## ВИСНОВКИ

У дисертації запропоновано теоретичне узагальнення імунопатогенезу інфекційного реактивного артрити на тлі колонізації хламідійної і реактивації ВЕБ-інфекції та нове вирішення підвищення ефективності лікування, раннього прогнозування ризиків трансформації реактивного артрити в ревматоїдний артрит.

1. У хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) ДНК ВЕБ виявлялась у 32,6% хворих лише в зішкрябах слизової задньої стінки глотки, у 4,65% – лише у слині, і у 62,8% пацієнтів одночасно в кількох середовищах: слина + зішкряб слизової – у 55,8% кров, слина і зішкряб – у 6,98% хворих; клініко-лабораторний індекс DAREА у цих хворих був вищим в 1,40 рази у порівнянні з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*.

2. У групі хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis*+ВЕБ) виявлено збільшення рівня молекул BART-13 (7,01 у.о.) та BART-15 (0,56 у.о) у порівнянні з відсутністю цих молекул у хворих на РеА з *C. trachomatis*; рівень регуляторних молекул системи miR був вищим: miR155 – в 6,29, а miR146 – у 7,71 рази, порівняно з пацієнтами з РеА лише з *C. trachomatis*; у хворих на РеА з комбінованим інфікуванням (*C. trachomatis*+ВЕБ) встановлено позитивні кореляції між молекулами BART-15 та miR155 ( $r=0,79$ ;  $p<0,05$ ), BART-13 та miR146 ( $r=0,62$ ;  $p<0,05$ ).

3. Антигенпрезентуюча здатність TLR9+ моноцитів була вищою в 1,50 рази та лімфоцитів в 1,33 рази у групі хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) у порівнянні з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*; оксидативна здатність моноцитів за умов стимуляції слабким фізіологічним стимулятором – N-формілметіоніл-лейцил-фенілаланіну (fMLP) була достовірно підвищена в 1,66 рази у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) в порівнянні з хворими на РеА з *C. trachomatis*.

4. За умов оцінки фенотипування лімфоцитів у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) виявлено знижену в 1,51 рази відносну кількість NK-клітин  $CD3^+CD16^+/56^+$  та підвищення в 1,40 рази відносної кількості В-лімфоцитів  $CD3^+CD19^+$  порівняно з хворими на РеА на тлі *C. trachomatis*.

5. Визначено підвищення ІФН- $\gamma$  в 1,71 рази та зниження рівня ІЛ-10 в 1,64 рази у сироватці крові хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) порівняно з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*.

6. У хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) концентрація кінцевих продуктів глікації у сироватці крові була вищою в 1,62 рази порівняно з хворими на РеА лише з *C. trachomatis*.

7. На основі методу логістичної регресії запропоновано прогностичну математичну модель ризику трансформації реактивного артриту з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) в ревматоїдний артрит; факторами ризику є кількість копій ДНК ВЕБ в різних середовищах одночасно, відносне число CD19<sup>+</sup> -лімфоцитів, рівні молекул BART-13, BART-15, miR146, в сироватці крові.

8. Застосування Імодину в комплексній терапії у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) показало клінічну ефективність за зниженням індексу DAREA в 2,51 рази та імунологічну ефективність - за нормалізацією відносної кількості Т-цитотоксичних лімфоцитів та В-лімфоцитів, у порівнянні з хворими, які отримували лише етіотропне та протизапальне лікування.

## **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Для верифікації вірусу Епштейна-Барр хворим на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) рекомендовано проводити в першу чергу молекулярно-генетичні дослідження з визначенням ДНК збудника (в першу чергу ВЕБ) в трьох біологічних середовищах (кров, слина, зішкряб слизової задньої стінки глотки), серологічні дослідження специфічного антитілоутворення.

2. Для визначення активності запального процесу у хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) рекомендуємо використовувати індекс активності DAREA.

3. З метою підвищення ефективності лікування на основі аналізу фенотипування лімфоцитів та консультації лікаря клінічного імунолога хворих на РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) запропоновано в якості терапії супроводу застосування імуномодуючого препарату Імодин 5 доз: (4 дози 1 раз в тиждень, 5-а - через місяць).

4. Запропоновано математичну модель прогнозування ризиків розвитку трансформації РеА з комбінованою інфекцією (*C. trachomatis* + ВЕБ) в ревматоїдний артрит.

## **СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації**

***Статті у наукових фахових виданнях України:***

1. Чопяк В. В., Гайдучок І. Г., Ломіковська М. П. Експериментальний хламідіоз. *Пробл. екол. та мед. генетики і клін. імунології*. 2012. №6. С. 105–



116. (Дисертантом зібрано та проаналізовано літературні джерела, підготовлено матеріал до друку).

2. Зубченко С. О., Потьомкіна Г. О., Ломіковська М. П. Дослідження асоціативних зв'язків хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції в стадії реплікативної активності у пацієнтів з алергопатологією. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2016. № 1–2. С. 49. (Автором проведено огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми, узагальнення та тлумачення отриманих результатів).

3. Ломіковська М. П., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Особливості лімфоцитарного пулу крові пацієнтів з реактивним артритом на тлі Епштейна-Барр вірусної та хламідійної інфекцій. *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія*. 2019. Вип. 3, Т. 87. С. 44–50. (Здобувачем проведено аналіз даних літератури, проведено клінічне обстеження хворих та узагальнення результатів).

4. Ломіковська М. П., Кріль І. Й., Чопяк В. В. Фагоцитарна активність нейтрофілів та моноцитів у пацієнтів з реактивним артритом, спричиненим хламідійною та Епштейна-Барр вірусною інфекціями. *Львів. мед. часопис*. 2019. № 4, Т. 25. С. 30–35. (Автором проаналізовано дані літератури, проведено підбір, аналіз та узагальнення даних, підготовлено матеріал до друку).

5. Ломіковська М., Кріль І., Потьомкіна Г., Чопяк В. Цитокіновий профіль у пацієнтів з реактивним артритом, спричиненим *Chlamydia trachomatis* та вірусом Епштейна-Барра. *Праці Наук. товариства імені Шевченка. Медичні науки*. 2019. Т. 57, № 2. С. 122–127. (Дисертантом сформовані групи обстеження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено матеріал до друку).

6. Зубченко С. О., Маруняк С. Р., Ломіковська М. П. Дослідження впливу хронічної Епштейна-Барр вірусної інфекції на рівень експресії miR-146a та miR-155 у пацієнтів з алергопатологією. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2019. Т. 4, № 4. С. 77–83. (Здобувачем проведено огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми, підготовлено матеріал до друку).

#### **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації у журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science**

7. Zubchenko S. O., Chopyak V. V., Havrylyuk A. M., Potemkina G. O., Lomikovska M. P. Investigation of miR-BART 13 and 15 in patients with allergopathy in combination with chronic Epstein-Barr viral infection. *World of Medicine and Biology*. 2019. № 2(68). P.054–060. WEB OF SCIENCE (Автором проведено узагальнення отриманих результатів, підготовлено текст статті до друку).

8. Zubchenko S., Potemkina G., Havrylyuk A., Lomikovska M., Sharikadze O. Analysis of the level of cytokines with antiviral activity in patients with allergopathology in active and latent phases of chronic persistent Epstein-Barr infection. *Georgian Med. News*. 2019. Is. 289. P. 158–162. SCOPUS (Дисертантом

проведено огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми, узагальнення і тлумачення отриманих результатів).

9. Lomikowska M. P., Hayduchok I. G., Potomkina H. O., Zubchenko S. O., Kril I. Y., Ishcheykin K. Y., Chopyak V. V. Peculiarities of TLR9 expression on immune competent cells in reactive arthritis patients with chronic Epstein-Barr virus infection. *World of Medicine and Biology*. 2020. № 1(71). P. 083–088. WEB OF SCIENCE (Автором сформовані групи обстеження, зібрано матеріал, аналіз та узагальнення отриманих даних, підготовлено матеріал до друку).

### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

10. Чоп'як В. В., Потьомкіна Г. О., Ліщук-Якимович Х. О. Порівняльна характеристика вмісту кріоглобулінів у хворих на реактивний та ревматоїдний артрит. *Імунологія та алергологія: наука і практика (додаток)*. 2012. № 3. С. 36–37. (Автором зібрано матеріал, проаналізовано отримані результати).

11. Чоп'як В. В., Потьомкіна Г. О., Кріль І. Й. Скринінг студентської молоді на поширеність хламідійної інфекції. *Імунологія та алергологія: наука і практика (додаток)*. 2012. № 3. С. 57–59. (Здобувачем зібрано матеріал, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів).

12. Потьомкіна Г. О., Чоп'як В. В., Ломіковська М. П., Кріль І. Й. Поширеність реактивного артрити на тлі Епштейна-Барр вірусної інфекції серед студентської молоді. *Досвід, реалії і перспективи розвитку систем охорони здоров'я* : тези доп. Укр.-Пол. симпозіуму. Львів, 2013. С. 540–542. (Дисертантом зібрано матеріал, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів).

13. Ломіковська М. П. Реактивні артрити на тлі Епштейна-Барр вірусної інфекції. *Контроверсійні питання сучасної клінічної медицини* : тези 2-ої загальноунів. наук.-практ. конф. молодих вчених і спеціалістів. Львів, 2013. С. 47–48. (Автором проведено клінічне дослідження, аналіз та систематизація матеріалу).

14. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Горбаль Н. М. Клініка, діагностика та стан імунної системи у хворих на реактивний артрит на тлі вірусної інфекції Епштейн-Барр. *Український ревматологічний журнал (матеріали конференції)*. 2015. № 3(61). С. 91. (Здобувачем проведено клінічне дослідження, статистичну обробку, сформульовано висновки).

15. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О., Ліщук-Якимович Х. О., Горбаль Н. М. Оцінка ефективності препарату Імодину у хворих на Епштейн-Барр вірусний реактивний артрит. *Хронічні неінфекційні захворювання: заходи профілактики і боротьби з ускладненнями* : матеріали конф. 2015. С. 223. (Дисертантом сформовано групи обстеження, проведено клінічне обстеження хворих та узагальнення отриманих результатів).

16. Ломіковська М. П., Потьомкіна Г. О. Вивчення ефективності застосування ліофілізованого діалізату лейкоцитів у хворих на реактивний артрит викликаний Епштейна-Барр вірусом. *Медикаментозна алергія: мультидисциплінарний підхід* : матеріали наук.-практ. конф. 2017. С. 12–14.

(Автором проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та узагальнення результатів).

17. Lomikovska M. Clinical picture, diagnostics and condition of immune system in patients with reactive arthritis against the background of Epstein-Barr virus infection. *11th International Conference of Allergy, Asthma and Clinical Immunology* : conference materials. Edinburgh (Scotland), 2017. P. 67 (Здобувачем проведено набір хворих, узагальнення і тлумачення отриманих результатів).

18. Lomikovska M., Zubchenko S., Lishchuk-Yakymovych K. Clinical and immunological features of reactive arthritis on the background of the Epstein-Barr virus. *Allergy*. 2018. No. 73. P. 763. (Дисертантом проведено клінічне обстеження хворих, узагальнення отриманих результатів, сформульовано висновки).

19. Zubchenko S., Lomikovska M., Lishchuk-Yakymovych K. Peculiarities of the Epstein-Barr virus prevalence among patients with pollen allergy. *Allergy*. 2018. No. 73. P. 583. (Автором проведено огляд сучасних літературних джерел з даної проблеми та аналіз отриманих даних).

20. Lomikovska M., Chopyak V., Potomkina H., Kril I. Peculiarities of TLR9 expression on immunocompetent cells in patients with the reactive arthritis induced by the Epstein-Barr viral infection and the rheumatoid arthritis. *Allergy*. 2019. No. 74. P. 466. (Здобувачем зібрано матеріал, проаналізовано та узагальнено отримані результати).

## АНОТАЦІЯ

**Ломіковська М. П. Імунопатогенез інфекційного реактивного артрити на тлі активованих облигатних інфекцій (*Chlamydia trachomatis* та Епштейна-Барр вірус), тактика ведення хворих. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.08 – імунологія та алергологія. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена підвищенню ефективності лікування та прогнозування ризиків трансформації реактивного артрити (РеА) у ревматоїдний артрит (РА) шляхом вивчення особливостей імунопатогенезу РеА на тлі хламідійної і Епштейна-Барр вірусної (ВЕБ) інфекцій.

Встановлено клінічні особливості перебігу РеА за індексом DAREА ( $p < 0,05$ ). Визначено молекулярно-генетичні та імунологічні особливості: зниження кількості Т-цитотоксичних лімфоцитів, НК-клітин та збільшення В-лімфоцитів ( $p < 0,05$ ), підвищення рівня miR146a, miR155 ( $p < 0,05$ ), підвищення рівня TNF- $\alpha$ , ІЛ-17, ІЛ-22, ІЛ-23, ІФН- $\gamma$ , зниження ІЛ-10 ( $p < 0,05$ ), підвищення рівня продуктів глікації ( $p < 0,01$ ).

Запропоновано математичну модель прогнозування ризику трансформації РеА в РА.

Розроблено метод лікування хворих на РеА на тлі комбінованої інфекції, який передбачає на тлі стандартної терапії застосування імуномодулюючого препарату Імодин.

**Ключові слова:** реактивний артрит, *Chlamydia trachomatis*, Епштейна-Барр вірус, ревматоїдний артрит, лімфоцити, цитокіни, miR155, miR146a, BART 13, BART 15, TLR9, AGE, імуномодулююча терапія.

## ABSTRACT

***Lomikowska M. P. Immunopathogenesis of infectious reactive arthritis in the background of activated obligate infections (Chlamydia trachomatis and Epstein-Barr virus), patient surveillance.*** - As manuscript.

The thesis for the scientific degree of the candidate of medical sciences in specialty 14.03.08 – Immunology and Allergology. – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2021.

The thesis is dedicated to the improvement of the efficiency of treatment and forecasting of the risks of transformation of reactive arthritis (ReA) into rheumatoid arthritis (RA) through the study of the peculiarities of immunopathogenesis in the background of *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) and Epstein-Barr virus (EBV).

The rate of activity of the inflammatory process under the DAREA index was higher in patients with ReA with combined infection as compared to the group of patients with ReA with *C. trachomatis* ( $p < 0,05$ ). Molecular and genetic studies have been established: the detection of the DNA of *C. trachomatis* (in blood serum and in the urinogenital scraping) and Epstein-Barr virus (in blood, saliva, mucous membrane of the posterior pharyngeal wall scraping) as well as specific molecules of immunoglobulin M and immunoglobulin G (IgM, IgG) to causative antigens.

In the group of patients with ReA with combined infection (*C. trachomatis* + EBV) a significant changes in the level of EBV miR BART-13 and BART-15 and the elevated levels of miR146a and miR155 were detected. In the study of the interaction of the molecule levels of miR146a, miR155 and BART-13 and BART-15 the group of patients with ReA with combined infection showed positive correlation between BART-15 and miR155 levels and between BART-13 and miR146 levels.

Immunological peculiarities have been established: increased level of expression of TLR9<sup>+</sup>CD123<sup>+</sup> on monocytes and lymphocytes, reduced number of T-cytotoxic lymphocytes, NK cells and increased number of B-lymphocytes ( $p < 0,05$ ). The comparison of the cytokine synthesis in the blood serum of the researched groups of patients has been made. Higher levels of TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-22, IL-23, IFN- $\gamma$  were traced in all the researched groups of patients with ReA ( $p < 0,05$ ). The IL-10 level was lowest in the group of patients with ReA with combined infection ( $p < 0,05$ ). In the assessment of the rate of final glycation products in the blood serum the highest AGE concentration was traced in the patients with ReA with combined infection ( $p < 0,01$ ).

Mathematical modeling has been conducted on the basis of the data of molecular and genetic as well as immunological studies, this enabling to determine the risk of transformation of reactive arthritis with combined infection (*C. trachomatis* + EBV) into rheumatoid arthritis. The data obtained enables to more purposefully modify the treatment strategy and preventive measures to prevent ReA transformation into a severe autoimmune pathology.

The method of treatment of patients with ReA in the background of combined infection, that presupposes application of immunomodulatory Immodin medication in the background of standard therapy, has been developed. After Immodin application the DAREA index in patients was lower ( $p < 0,05$ ) as a sign of clinical effectiveness and assessment of the subpopulation composition of lymphocytes enabled to detect increase in the number of T-cytotoxic lymphocytes ( $p < 0,01$ ), reduced number of B-lymphocytes ( $p < 0,05$ ) and increased number of NK cells in the background of reduced number of T helpers and increased number of T-regulatory lymphocytes ( $p > 0,05$ ).

**Key words:** reactive arthritis, *Chlamydia trachomatis*, Epstein-Barr virus, rheumatoid arthritis, lymphocytes, cytokines, miR155, miR146a, BART-13, BART-15, TLR9, AGE, immunomodulatory therapy.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВЕБ	– вірус Епштейна-Барр
ІФА	– імуноферментний аналіз
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
РА	– ревматоїдний артрит
РеА	– реактивний артрит
AGE	– кінцеві продукти глікації
<i>C. trachomatis</i>	– <i>Chlamydia trachomatis</i>
IgG EBNA	– імуноглобуліни G до ядерного антигену вірусу Епштейна-Барр
IgG VCA	– імуноглобуліни G до капсидного антигену вірусу Епштейна-Барр
IL	– інтерлейкіни
IFN- $\gamma$	– інтерферон гамма

Підписано до друку 12.04.21  
Формат 60x84/16. Папір офсетний.  
Друк на різнографі. Зам. №12/04-2  
Ум. друк. арк. 0,9  
Наклад 100 прим.

Видавництво “Галич-Прес”  
Видавець ФОП Король І.В.  
м. Львів, вул. Гнатюка, 17  
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924  
Свідоцтво ДК №5353 від 24.05.2017 р.